ÉTUDE DE LA CROISSANCE DES PLAQUES OSSEUSES DERMIQUES D'*HOPLOSTERNUM LITTORALE* (SILURIFORMES, CALLICHTHYIDAE) A L'AIDE DU MARQUAGE VITAL

par

Jean-Yves SIRE (1), François J. MEUNIER (1)(2) et Thierry BOUJARD (3)

RÉSUMÉ. - La dynamique de l'ostéogenèse dans les scutes d'*Hoplosternum littorale* a été étudiée à l'aide de fluoromarqueurs de l'os, la fluorescéine, l'orangé de xylénol et la tétracycline, administrés alternativement tous les 2 mois sur des individus maintenus 12 mois après l'éclosion en bassins dans des conditions naturelles. L'étude de la position successive des fluorochromes a permis de suivre la morphogenèse des scutes et de montrer qu'elles s'accroissent plus vite en surface qu'en épaisseur. C'est dans la région postérieure que l'ostéogenèse est la plus rapide puisqu'elle atteint près de 30 µm/jour lors des deux premiers mois. Dans toutes les régions des scutes, l'ostéogenèse fléchit ensuite nettement à l'âge de 5 ou 6 mois, tout en restant encore très rapide dans la région postérieure, même à 12 ou 14 mois. Les résultats obtenus pour les deux lots sont comparés avec les données de la littérature concernant les vitesses d'apposition osseuse chez les Vertébrés.

ABSTRACT. - Study of the growth of the osseous dermal plates in *Hoplosternum littorale* using vital labelling.

The dynamic of the osteogenesis in the scutes of *Hoplosternum littorale* was studied using fluorescent labelling of calcified tissues in experimentally reared specimens. Fluorescein (DCAF), xylenol orange and tetracycline were alternatively administered by 6 injections 2 month-spaced, during the first year of life of two samples of laboratory born fish. The deposit of the labels on the calcified tissues of the scutes was studied using ground sections observed through ultraviolet light. The successive position of the fluorochroms allowed to describe the scute morphogenesis and to calculate the speed of the periosteal osseous deposit in 4 regions: anterior, posterior, superficial and basal. Scutes grew faster in width than in thickness and the posterior region showed the fastest osteogenesis reaching 30 µm/day during the two first months. In the 12- or 14-months-old specimens the osseous deposit remained fast in the posterior region whereas it decreased in the anterior one, became weak in the basal one and was not visible in the superficial one. In all the scute regions the osteogenesis clearly decreased after 5 or 6 months. The dry season period showed a slow down of the bone deposit in the scutes. The results obtained for both samples were compared to the literature data dealing with the bone apposition rates in fish and other vertebrates.

Mots-clés. - Callichthyidae, *Hoplosternum littorale*, French Guiana, Vital labelling, Dermal plates, Scutes, Growth.

Les Siluriformes "cuirassés" (Callichthyidae, Loricariidae, certains Doradidae,...), ont le corps protégé partiellement ou complètement par des plaques osseuses dermiques, encore appelées scutes, sur lesquelles sont attachés des denticules (Bhatti, 1938) ou odontodes (Ørvig, 1977). De forme et d'organisation très différentes chez les espèces représentant les trois familles citées ci-dessus, les scutes ont en revanche une structure re-

(1) Equipe "Formations Squelettiques", URA CNRS 1137, Université Paris 7, Laboratoire d'Anatomie comparée, Case 7077, 2 place Jussieu, 75251 Paris cedex 05, FRANCE.
(2) Laboratoire d'Ichtyologie générale et appliquée, Muséum national d'Histoire naturelle, 43 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, FRANCE.
(3) INRA, Station d'Hydrobiologie, 64310 St Pée sur Nivelle, FRANCE.

Cybium 1993, 17(4): 273-285.

lativement homogène: une épaisse plaque basale osseuse, plus ou moins vascularisée, recouverte, chez la plupart des espèces, d'un tissu particulier très minéralisé et qui n'est pas de l'os, la hyaloïne (Sire, 1993; Sire et Meunier, 1993). Bhatti dans son important travail (1938) indique que "la croissance s'effectue au bord postérieur de la scute où de nouveaux denticules sont formés". Cependant une étude récente de l'ontogenèse des scutes d'un autre Callichthyidae, *Corydoras arcuatus*, a montré que des accroissements avaient lieu dans toutes les régions. Toutefois, l'ostéogenèse ne s'effectuerait pas à la même vitesse suivant les différentes régions de la scute (Sire, 1993). Pour confirmer ces observations et pouvoir mesurer la croissance de ces pièces squelettiques, nous avons étudié des scutes prélevées sur une autre espèce, l'atipa, *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828).

Ce Callichthyidae d'Amérique du sud (Guyane française) présente un intérêt économique certain (Boujard *et al.*, 1988; Luquet *et al.*, 1990) et, ces dernières années, sa reproduction, sa croissance et son élevage ont été notamment bien étudiés (voir références dans Boujard *et al.*, 1992; Moreau *et al.*, 1992; Hostache *et al.*, 1992). Nous avons utilisé des *H. littorale* issus de reproductions au laboratoire, élevés en bassin et injectés par des marqueurs vitaux fluorescents. La technique du marquage vital fluorescent, déjà utilisée dans une étude de la croissance des épines pectorales (Boujard et Meunier, 1991), a permis de préciser la dynamique de la croissance des scutes, de mesurer les vitesses d'ostéogenèse dans diverses régions et de mieux comprendre les relations existant entre vitesse d'ostéogenèse et types osseux.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel est le même que celui qui a été utilisé par Boujard et Meunier (1991) pour leur étude de la croissance de l'épine pectorale. On s'y réfèrera pour l'ensemble des informations relatives aux conditions d'élevage des animaux.

Expérimentation

Deux lots d'*Hoplosternum littorale* nés au laboratoire les 22 février et 6 juin 1988, ont été injectés avec trois fluorochromes administrés alternativement dans la cavité abdominale: fluorescéine (DCAF) à 40 mg/kg, orangé de xylénol à 90 mg/kg et tétracycline (chlorhydrate de tétracycline) à 50 mg/kg. Au total, 6 injections séparées par des intervalles d'environ 2 mois ont été pratiquées au cours des 12 premiers mois d'élevage pour le premier lot et des 14 pour le second (Tableau I). La première injection de fluorescéine (F1) a eu lieu le 7 avril 1988 pour le lot 1 (individus âgés alors de 45 jours) et le 1er septembre 1988 pour le lot 2 (individus âgés alors de 87 jours). La dernière injection de tétracycline (T2) a été pratiquée le 6 février 1989 pour le lot 1 et le 26 juillet 1989 pour le lot 2. Dix spécimens du premier lot et 7 du second ont été sacrifiés une semaine après la dernière injection de tétracycline. Les scutes ont été prélevées dans la région pectorale de chaque individu, fixées dans l'alcool 70° et conservées à l'obscurité.

Confection des coupes

Des coupes transversales ont été faites dans la région centrale de chaque scute (Fig. 1) après inclusion dans une résine polyester (stratyl). Les tranches (environ 150 µm d'épaisseur) réalisées avec une tronçonneuse à scie diamantée (Isomet) ont été usées jusqu'à une épaisseur comprise entre 40 et 80 µm. Les lames minces ainsi obtenues ont été observées avec un microscope à fluorescence (filtres d'excitation BG12 + BG38, filtre d'arrêt K530).

Prise des mesures

La vitesse de l'ostéogenèse (µm/jour) dans différents secteurs de chaque scute a été calculée à partir des mesures des intervalles existant entre les dépôts des marques fluorescentes successives. Ces mesures (en µm) ont été prises à l'aide d'un micromètre

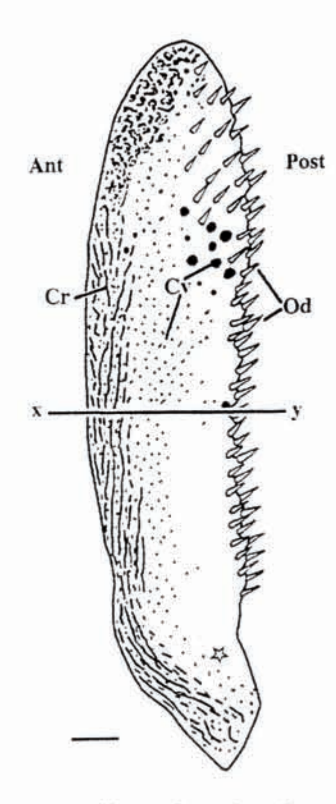


Fig. 1. - Dessin d'une scute de la rangée dorsale prélevée sur le flanc gauche d'un *Hoplosternum littorale* âgé de 12 mois. Ant: région antérieure; Cr: crêtes; Cv: orifices de canaux vasculaires; Od: odontodes; Post: région postérieure; xy: localisation du niveau des coupes; *: région située près du septum horizontal recouverte partiellement par une scute de la rangée ventrale. Echelle = 500 µm. [*Drawing of a scute from the dorsal row of the left flank of a 12 month-old* Hoplosternum littorale *Ant: anterior region; Cr: ridges; Cv: openings of vascular canals; Od: odontods; Post: posterior region; xy: localization of the sections; *: region located near the horizontal septum and partially covered by a scute from the ventral row. Scale bar = 500 µm.*]

oculaire dans quatre régions de la scute, champs antérieur et postérieur, plaque basale et couche superficielle (Fig. 2) pour les individus de chaque lot (Tableau I). Une cinquième mesure, correspondant à l'épaisseur d'os déposée avant la première injection, a été prise au centre de la scute (focus). Des courbes de croissance moyenne des individus de chaque lot ont été établies pour les régions antérieure, basale et postérieure (Fig. 3).

RÉSULTATS

Organisation et structure

L'organisation et la structure des scutes ont déjà été décrites chez diverses espèces de Siluriformes cuirassés (Bhatti, 1938; Sire et Meunier, 1993); nous ne rappellerons donc que brièvement les points essentiels concernant celles d'*Hoplosternum littorale.*

Sur chaque flanc du poisson, les scutes sont disposées sur deux rangées, l'une ventrale, l'autre dorsale. Situées de part et d'autre du septum horizontal, région où elles se chevauchent légèrement, elles ont la forme grossièrement rectangulaire (Fig. 1) et, dans une même rangée, se recouvrent partiellement. La plus grande partie de la surface d'une scute est lisse mais percée de nombreux petits orifices de canaux vasculaires. Dans les régions antérieure et ventrale, la surface est ornementée de crêtes peu prononcées, parallèles au bord de la scute. Deux rangées d'odontodes, serrés et orientés vers l'arrière, ornent le bord postérieur de la scute. Ils sont plus dispersés dans la région dorsale (Fig. 1). Les odontodes sont attachés à la surface de la scute par un ligament.

Tableau I. - Mesures de l'ostéogenèse dans différentes régions des scutes d'*Hoplosternum littorale* (voir Fig. 2) pendant un intervalle de temps exprimé en jours (j). La croissance osseuse individuelle et sa moyenne sont exprimées en µm et en µm/jour dans chacun des deux lots. F1 et F2: première et seconde injection de fluorescéine; O1 et O2: orangé de xylénol; T1 et T2: tétracycline. * Si on admet que la scute commence à se former 30 jours après l'éclosion, voir texte, discussion. [*Amount of osteogenesis in different regions of the scutes in* Hoplosternum littorale *(see figure 2) for a given space of time (j = days). Bone growth is expressed in µm and in µm/day both for each specimen (1 to 17) and for the mean in each samples (lot 1 and lot 2). F1 and F2: first and second injection of calcein; O1 and O2: xylenol orange; T1 and T2: tetracycline. * If one supposes that scutes develop only 30 days after hatching, see text, discussion.*]

Lot 1	Région antérieure						Région postérieure					
N°	F1O1 54 j	O1T1 62 j	T1F2 60 j	F2O2 67 j	O2T2 62 j	Totaux 305 j	F1O1 54 j	O1T1 62 j	T1F2 60 j	F2O2 67 j	O2T2 62 j	Totaux 305 j
1	440(8,14)	440(7,09)		73(0,39)		953(3,12)	1062(19,6)	366(5,90)		122(0,65)		1550(5,08)
2	525(9,72)	562(9,06)	49(0,82)	67(1,00)	43(0,69)	1246(4,08)	1099(20,3)	659(10,63)	226(1,78)		31(0,50)	2015(6,61)
3	611(11,31)	232(3,74)	85(1,42)	37(0,55)	134(2,16)	1099(3,60)	952(17,6)	379(6,11)	85(1,42)	98(1,46)	98(1,58)	1612(5,28)
4	647(12,00)	366(5,91)	85(0,67)		293(4,73)	1391(4,56)	1026(19,0)	317(5,11)	61(1,02)	110(1,64)	195(3,15)	1709(5,60)
5	1160(20,00)		134(2,23)	208(3,10)	24(0,39)	1526(5,00)	1323(24,5)	757(12,21)	354(5,90)	366(5,46)	-	2800(9,18)
6	781(14,47)	324(5,22)	128(2,13)	122(1,82)	24(0,39)	1379(4,52)	1148(21,3)	366(5,90)	92(1,53)	476(7,10)	24(0,39)	2106(6,90)
7	379(7,01)	501(8,07)	37(0,62)	147(2,19)	122(1,97)	1186(3,89)	855(15,8)	684(11,03)	37(0,62)	98(1,46)	159(2,56)	1833(6,01)
8	-	293(4,73)	31(0,52)	110(1,64)	24(0,39)	-	-	611(9,85)	122(2,03)	244(3,64)	24(0,39)	-
9	525(9,72)	488(7,88)	183(3,05)	244(3,64)	24(0,39)	1464(4,80)	745(13,8)	696(11,23)	354(5,90)	379(5,66)	55(0,89)	2229(7,31)
10	611(11,31)	379(6,11)	122(2,00)	147(2,20)	24(0,39)	1283(4,21)	1600(29,6)	366(5,90)	244(4,07)	586(8,75)	98(1,58)	2894(9,49)
Moy	565(10,46)	398(6,42)	96(1,60)	135(2,02)	79(1,27)	1281(4,20)	1090(20,2)	520(8,39)	169(2,81)	295(4,40)	86(1,38)	2083(6,83)

Lot 1	Région superficielle				Focus	Région basale					
N°	F1O1 54 j	O1F2 122 j	F2T2 129 j	Totaux 305 j	F1F1 ≤ 15 j *	F1O1 54 j	O1T1 62 j	T1F2 60 j	F2O2 67 j	O2T2 62 j	Totaux 305 j
1		165(0,54)		165(0,54)	287(19,13)	232(4,30)	73(1,18)	31(0,16)			336(1,10)
2		214(0,70)		214(0,70)	305(20,33)	134(2,48)	98(1,58)	24(0,40)	12(0,09)		268(0,88)
3		171(0,56)		171(0,56)	305(20,33)	256(4,74)	88(1,42)	37(0,62)	12(0,18)	12(0,19)	405(1,32)
4		171(0,56)		171(0,56)	232(15,47)	232(4,30)	92(1,48)	24(0,40)	12(0,18)	18(0,09)	378(1,24)
5	183(3,39)	79(0,65)	31(0,24)	293(0,96)	244(16,27)	183(3,39)	159(2,56)	55(0,92)	43(0,64)	6(0,10)	446(1,46)
6	128(2,37)	43(0,17)		171(0,56)	281(18,73)	226(4,18)	104(1,68)	31(0,52)	31(0,46)	12(0,19)	404(1,32)
7	134(2,48)	61(0,24)		195(0,64)	220(14,67)	226(4,18)	147(2,37)	37(0,62)	6(0,09)	6(0,10)	422(1,38)
8	-	85(0,34)		-	-	-	116(1,87)	37(0,62)	12(0,18)	6(0,10)	-
9	141(2,61)	43(0,35)	18(0,14)	202(0,66)	311(20,73)	244(4,52)	116(1,87)	31(0,52)	24(0,19)		415(1,36)
10	208(3,85)	31(0,12)		239(0,78)	256(17,07)	256(4,74)	98(1,58)	37(0,62)	37(0,29)		428(1,40)
Moy	159(2,94)	65(0,26)		202(0,66)	271(18,07)	221(4,09)	109(1,76)	35(0,58)	19(0,29)	10(0,16)	389(1,27)

Tableau I (suite)

Lot 2 N°	Région antérieure F1O1 62 j	O1T1 61 j	T1F2 64 j	F2O2 71 j	O2T2 70 j	Totaux 328 j	Région postérieure F1O1 62 j	O1T1 61 j	T1F2 64 j	F2O2 71 j	O2T2 70 j	Totaux 328 j
11	708(5,76)		24(0,38)	171(1,21)		903(2,75)	586(4,76)		147(2,30)	299(4,21)	165(2,36)	1197(3,65)
12	391(3,18)		183(2,86)	49(0,35)		623(1,90)	427(3,47)		366(5,72)	256(3,61)	110(1,57)	1159(3,53)
13	488(3,97)		12(0,19)	98(0,69)		598(1,82)	427(3,47)		238(3,72)	232(3,27)	134(1,91)	1031(3,14)
14	488(3,97)		73(1,14)	104(1,46)	37(0,53)	702(2,14)	452(3,67)		281(4,39)	122(1,72)	85(1,21)	940(2,87)
15	403(3,28)		159(2,48)	24(0,34)	0	610(1,86)	317(2,58)		305(4,77)	171(2,41)	98(1,40)	891(2,72)
16	464(3,77)		134(2,09)	98(1,38)	24(0,34)	720(2,19)	317(2,58)		220(3,44)	232(3,27)	122(1,74)	891(2,72)
17	513(4,17)		37(0,58)	85(1,20)	85(1,21)	720(2,19)	855(6,95)		177(1,31)		43(0,61)	1075(3,28)
Moy	494(4,01)		89(1,39)	78(1,09)	36(0,52)	697(2,12)	483(3,93)		260(4,05)	219(3,08)	108(1,54)	1026(3,13)

Lot 2 N°	Région superficielle Totaux (F1T2) 328 j	Focus F1F1 ≤ 27 j *	Région basale F1O1 62 j	O1T1 61 j	T1F2 64 j	F2O2 71 j	O2T2 70 j	Totaux 328 j
11	55(0,17)	452(7,91)	110(1,77)	31(0,51)	18(0,28)	24(0,17)		183(0,56)
12	-	-	-		-	-	-	-
13	43(0,13)	537(9,42)	122(0,99)		31(0,48)	18(0,11)		171(0,52)
14	49(0,15)	519(9,11)	122(0,99)		37(0,58)	24(0,34)	18(0,26)	201(0,61)
15	43(0,13)	531(9,32)	85(0,69)		18(0,28)	24(0,34)		127(0,39)
16	43(0,13)	501(8,79)	98(0,80)		12(0,19)	12(0,17)	12(0,17)	134(0,41)
17	49(0,15)	531(9,32)	147(1,20)		6(0,09)	18(0,25)	6(0,08)	177(0,54)
Moy	47(0,14)	512(8,98)	119(0,97)		20(0,32)	26(0,18)	12(0,17)	142(0,43)

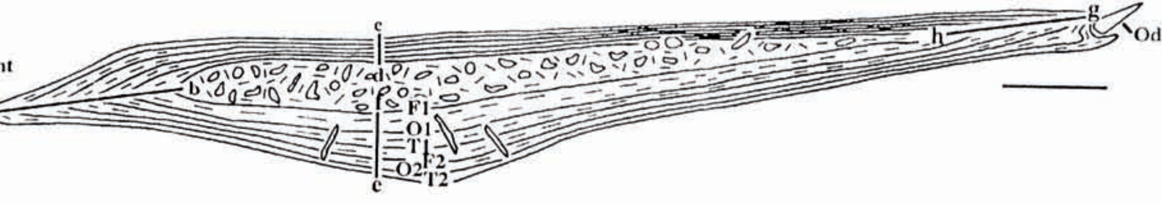


Fig. 2. - Dessin d'une coupe tranversale effectuée dans la région centrale d'une scute (axe xy de la figure 1). Les 6 lignes continues représentent la localisation des différents fluorochromes (F1 à T2) dans l'épaisseur de la scute. ab, cd, ef, et gh indiquent les régions où ont été prises les mesures, respectivement antérieure, superficielle, basale et postérieure. Ant: région antérieure; Od: odontode; Post: région postérieure. Echelle = 100 µm. [*Drawing of a transverse section in the central region of a scute (xy axis shown in figure 1). The 6 lines represent the localization of the different fluorochromes (F1 to T2) in the thickness of the scute. ab, cd, ef, and gh indicate the studied regions, respectively anterior, superficial, basal and posterior. Ant: anterior region; Od: odontod; Post: posterior region. Scale bar = 100 µm.*]

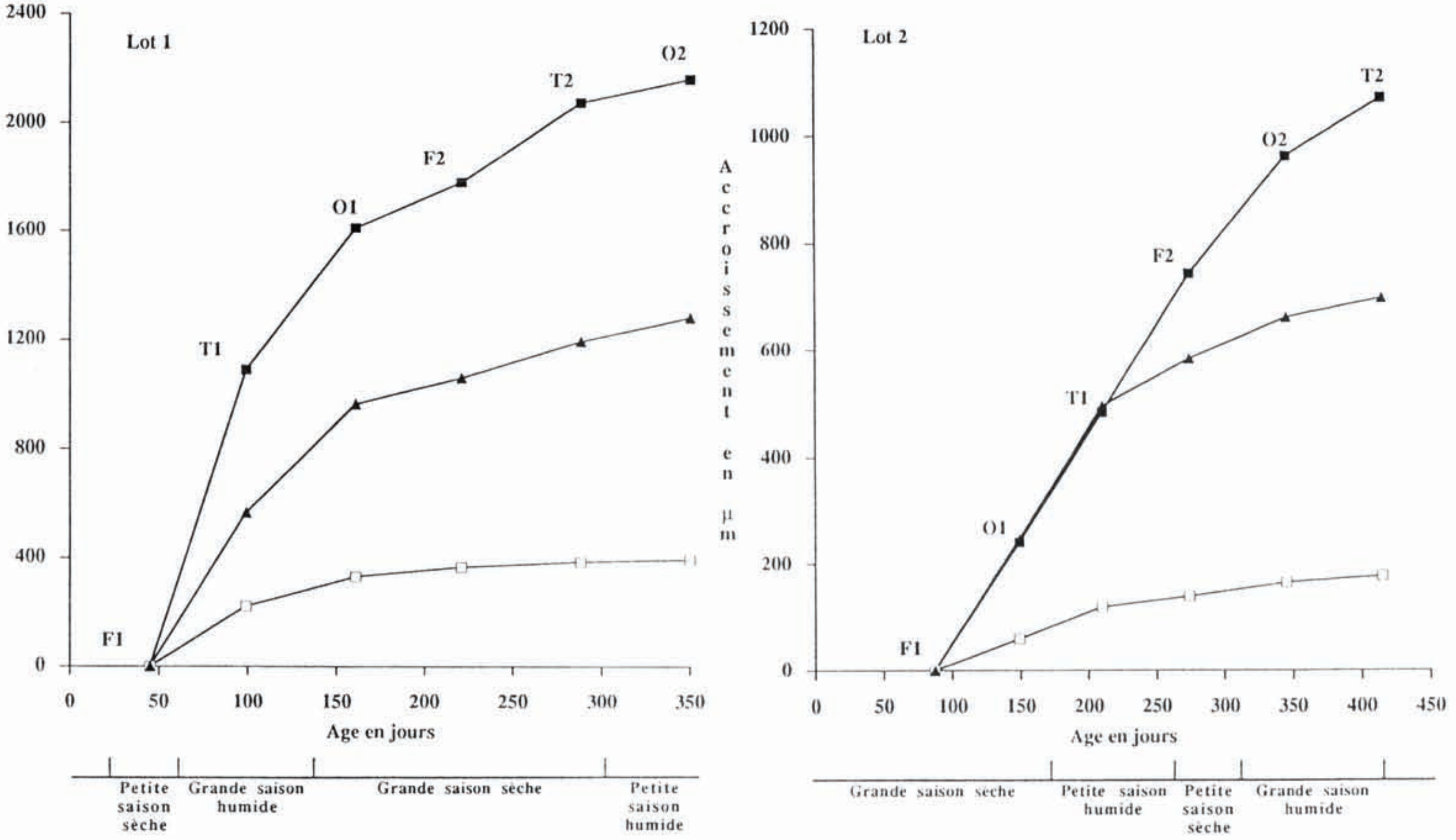


Fig. 3. - Accroissement moyen des scutes (en µm) en fonction du temps dans les régions antérieure, postérieure et basale pour les deux lots d'après les données du tableau I (A = lot 1; B = lot 2). Carrés blancs = région basale; carrés noirs = région postérieure; triangles = région antérieure. [*Mean growth of the scutes (in µm) against time in the anterior, posterior and basal regions for both samples from data in table I (A = sample 1; B = sample 2). White squares = basal region; black squares = posterior region; triangles = anterior region.*]

Une scute est constituée principalement de deux régions (Figs 2, 4). La région centrale assez allongée, ou initium, est la partie la plus ancienne de la scute et correspond aux premiers stades de croissance. Constituée d'os à fibres enchevêtrées, elle est caractérisée par la présence d'un réseau vasculaire bien développé. La région périphérique, située autour de la précédente et beaucoup moins vascularisée, est constituée d'os à fibres parallèles dans lequel sont éventuellement visibles des marques de croissance. C'est dans cette région que se sont déposés les 6 marqueurs fluorescents (Figs 2, 4). La partie superficielle de la scute est constituée de hyaloïne.

Croissance

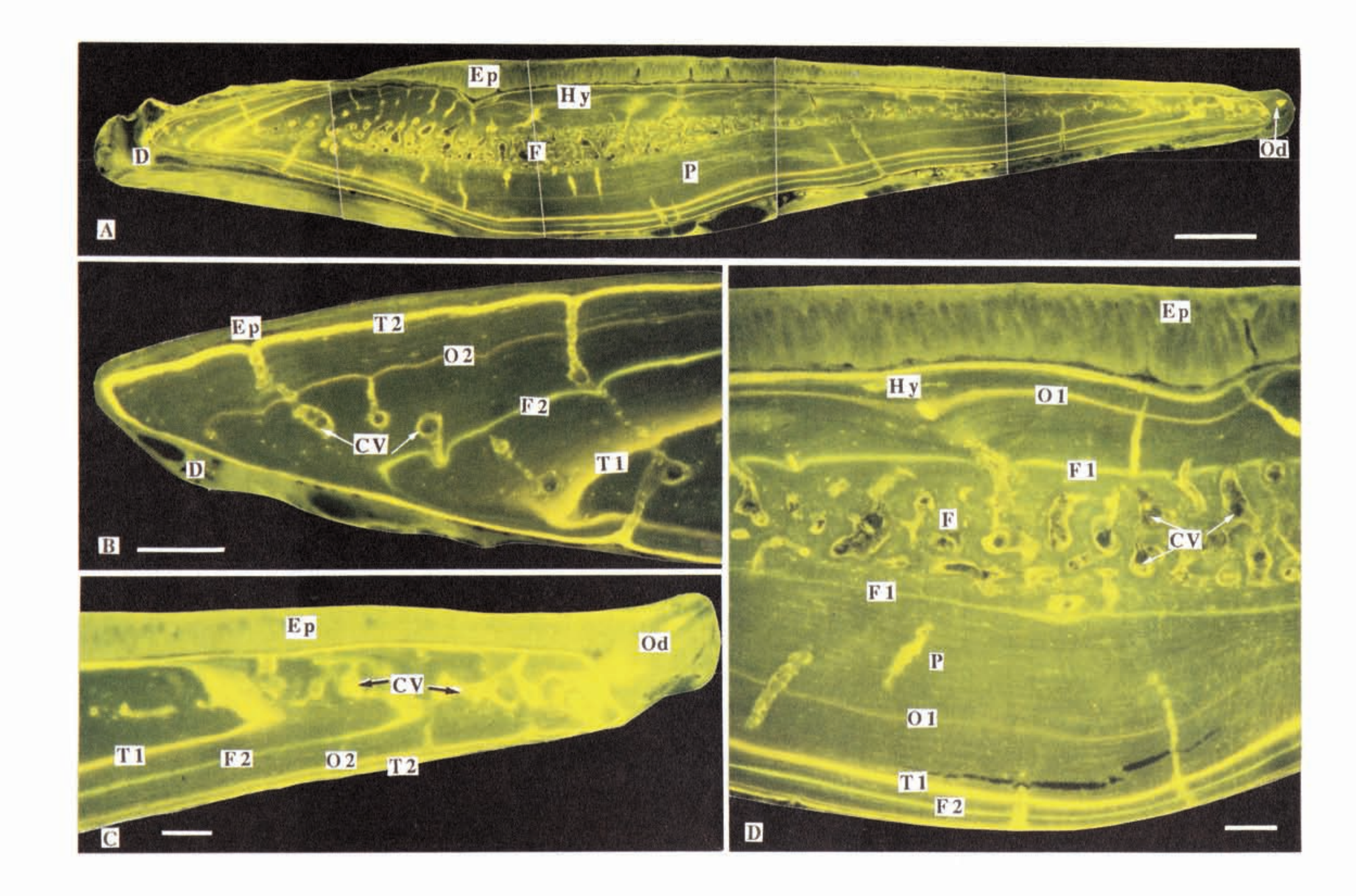
Une fois injectés les fluorochromes se déposent sur les surfaces en voie de minéralisation (Meunier, 1974; Meunier et Boivin, 1974). Sur les scutes on les retrouve sous la forme de fines lignes plus ou moins parallèles et fluorescentes en lumière ultraviolette (Fig. 4a). Cependant, la première injection d'orangé de xylénol (O1) ne se retrouve pas, ou très difficilement, chez les individus du lot 2 (Tableau I) et, en règle générale, le dépôt de ce fluorochrome est assez difficile à repérer contrairement à celui de la fluorescéine et de la tétracycline (Fig. 4). L'orangé de xylénol n'est donc pas un bon marqueur de l'ostéogenèse dans les scutes. Il semble d'ailleurs que ce marqueur donne des résultats moins bons chez les poissons (Meunier et Pascal, 1981; Boujard et Meunier, 1991; Trébaol *et al.*, 1991) que chez les mammifères et notamment les rongeurs (Fichet *et al.*, 1986).

La première marque de fluorescéine (F1) n'est pas visible chez un des individus du lot 1 de même que F2 et O2 chez un autre individu de ce lot; ces marqueurs ont pu être inefficaces s'ils ont été malencontreusement injectés dans le tube digestif. Chez un spécimen du lot 2, aucune mesure n'a pu être relevée dans la région centrale en raison de la présence d'un réseau vasculaire très développé et des importants phénomènes de résorption observés.

Chez tous les individus, les marques fluorescentes montrent que le dépôt osseux périostique se fait sur toute la surface de la scute. Cependant, les intervalles entre deux marques consécutives étant plus ou moins grands selon les régions étudiées cela implique des vitesses d'ostéogenèse différentes. La région postérieure présente la plus grande croissance, suivie de la région antérieure puis des régions centrales (Tableau I, Figs 3, 4). L'accroissement des scutes se fait donc plus rapidement en surface qu'en épaisseur. Lorsque la vitesse de l'ostéogenèse est lente, comme dans la région superficielle, certaines marques se chevauchent (Fig. 4d); dans ce cas, c'est l'intervalle entre deux marques distinctes qui est mesuré et l'on obtient une valeur globale de l'accroissement.

La croissance différentielle observée selon les régions de la scute permet également de déduire les différentes étapes de la morphogenèse générale (Fig. 4).

La localisation du premier marqueur (F1) indique l'état de développement de la scute au moment du premier marquage. Dans la région basale, la marque de fluorescéine est nettement localisée dans de l'os à fibres parallèles, autour de l'os fibreux central, très vascularisé (Fig. 4a, d). Dans la partie superficielle, la limite est moins nette car située dans une région où les canaux vasculaires sont encore nombreux. Dans les régions plus latérales (antérieure et postérieure), la marque n'est pas toujours visible car placée dans la partie vascularisée (Fig. 4a). Ces observations montrent que l'os fibreux a cessé de se déposer très tôt dans la région centrale et bien avant le 45ème jour suivant l'éclosion dans l'exemple illustré. La scute s'épaissit ensuite par addition de fines couches d'os à fibres parallèles. Cependant, dans les régions antérieure et postérieure, de l'os fibreux se déposait encore au moment du premier marquage. Au cours de la croissance, des canaux vasculaires sont toujours englobés dans l'épaisseur de la scute. Cette vascularisation est localisée dans la partie médiane des régions antérieure et surtout postérieure où elle est en relation avec les odontodes (Fig. 4a, b, c). C'est au niveau de cette partie médiane vascularisée que les vitesses de croissance sont maximales en directions antérieure et postérieure.


Ep
Hy
D
F
P
Od
A
Ep
T2
O2
F2
CV
D
T1
B
Ep
Od
CV
T1
F2
O2
T2
C
Ep
Hy
O1
F1
F
CV
F1
P
O1
T1
F2
D

La scute s'épaissit davantage dans la région basale centrale et cela durant les deux premières périodes de marquage (Fig. 4a, d). L'épaississement, qui s'effectue régulièrement sur toute la surface comme le révèlent les intervalles réguliers entre deux marques successives, ralentit au moment du troisième marquage (T1) et les deux derniers marqueurs (O2, T2) sont parfois superposés. L'accroissement en épaisseur est très faible dans la région antérieure où les trois derniers marqueurs ne sont pas souvent visibles (Fig. 4b) alors qu'ils sont nets dans la région postérieure (Fig. 4c). Dans la région superficielle seules les deux premières marques sont visibles, les autres étant toutes superposées (Fig. 4d). On remarque toutefois que c'est dans cette région que la première marque d'orangé de xylénol (O1) est la plus forte.

La croissance de la scute ne s'effectue pas de la même façon dans les régions antérieure et postérieure. Dans la première (Fig. 4b), le dépôt osseux progresse le plus rapidement en un point (comme si c'était la pointe d'une flèche) alors que dans la seconde (Fig. 4c), l'ostéogenèse avance à peu près à la même vitesse sur un même front.

Pendant la durée de l'expérience, les scutes des individus du lot 1 ont eu une croissance plus importante que celles des atipas du lot 2 (Fig. 3, Tableau I). L'ostéogenèse est en moyenne presque deux fois plus rapide dans la région antérieure (1281 µm contre 697 µm), deux fois plus dans la région postérieure (2083 contre 1026), presque cinq fois plus dans la région superficielle (202 contre 47) et presque 3 fois plus dans la région basale (389 contre 142). Dans les deux lots, c'est la région postérieure des scutes qui s'accroît le plus en surface avec 2083 µm d'os déposés en 305 jours pour le lot 1 (6,8 µm/j) et 1026 µm en 328 jours pour le lot 2 (3,1 µm/j). Les vitesses d'ostéogenèse les plus importantes ont été de 29,6 et 24,5 µm/jour dans la région postérieure des scutes de deux individus du lot 1 lors des 2 premiers mois. L'ostéogenèse a été la plus rapide lors de la première période de marquage, pour les individus des deux lots et dans toutes les régions, pour ensuite ralentir dans les mois suivants. Les courbes de la figure 3 révèlent que l'ostéogenèse ralentit dans la période qui suit la troisième injection, c'est-à-dire chez des animaux âgés de 6 à 8 mois respectivement pour les deux lots. A la fin de l'expérience (individus âgés de 12 et 14 mois), les vitesses d'ostéogenèse sont proches de 1 et 1,5 µm/j dans les régions antérieure et postérieure et inférieures à 0,3 µm/j dans la région centrale (Tableau I). Les scutes des individus du lot 1 présentent un net ralentissement de croissance au cours de la troisième période (T1F2) dans les régions de fort accroissement (antérieure et postérieure); cela est moins net pour le lot 2 (Fig. 3).

Fig. 4. - Lames minces de scutes d'*Hoplosternum littorale* observées en lumière bleue. F1, O1, T1, F2, O2, T2: dépôts des trois fluorochromes (voir texte et tableau I. A: vue générale (individu n° 5, lot 1). Les 6 dépôts de fluorochromes sont visibles et bien espacés, surtout dans les régions antérieure (à gauche) et postérieure (à droite). B à D: détails respectivement des régions antérieure (individu n°13, lot 2), postérieure et centrale (individu n° 9, lot 1). CV: canaux vasculaires; D: derme; Ep: epiderme; F: os fibreux; Hy: hyaloïne; Od: odontode; P: os à fibres parallèles. Echelles: A = 500 µm ; B = 100 µm; C = 100 µm ; D = 100 µm. [*Ground sections of scutes of* Hoplosternum littorale *observed in blue light. F1, O1, T1, F2, O2, T2: deposits of the three fluorochromes (see text and table I). A: general view (specimen n° 5, sample 1). The 6 fluorochromes are distinctly deposited and well spaced, particularly in the anterior (on the left) and posterior regions (on the right). B to D: details of anterior (specimen n° 13, sample 2), posterior and central (specimen n° 9, sample 1) regions respectively. CV: vascular canals; D: dermis; Ep: epidermis; F: woven bone; Hy: hyaloine; Od: odontod; P: parallel-fibred bone. Scale bars: A = 500 µm; B = 100 µm; C = 100 µm ; D = 100 µm.*]

DISCUSSION

Le marquage vital fluorescent a permis de démontrer que les scutes d'*Hoplosternum littorale* s'accroissent en épaisseur dans leur région centrale et en surface dans toutes les directions mais surtout dans les régions postérieure et antérieure, et pas uniquement en région postérieure comme cela avait été avancé par Bhatti (1938). Le gain en épaisseur accroît sans aucun doute la robustesse des scutes alors que l'extension en surface est probablement plus liée à l'allongement du poisson qu'à un gain en protection. Cependant, l'accroissement en surface peut résulter en une imbrication antéro-postérieure plus importante des scutes et, par conséquent, à la fois renforcer la protection et augmenter la rigidité du corps.

L'ostéogenèse est dans l'ensemble rapide puisqu'elle approche les 30 µm/jour dans la région postérieure des scutes d'un individu du lot 1 lors des 2 premiers mois d'expérience. Il est probable que le dépôt osseux est encore plus rapide dans le premier mois, mais il aurait fallu raccourcir les intervalles entre les deux premières injections pour pouvoir l'affirmer.

Chez les individus du lot 1, les plus jeunes (45 jours après l'éclosion) au début des injections, le premier fluorochrome s'est déposé dans une région déjà occupée par de l'os à fibres parallèles. Ceci montre qu'après la période de grande vitesse de croissance des scutes (dans les premiers jours où elle est représentée par la région d'os à fibres enchevêtrées entourée par le premier marqueur, le focus) un certain ralentissement de l'ostéogenèse a eu lieu puisque ce n'est plus de l'os à fibres enchevêtrées, caractéristique d'un dépôt très rapide (Ricqlès, 1975, 1976, 1977). Chez *H. littorale*, les premiers éléments de la matrice osseuse des scutes apparaissent assez tard au cours de l'ontogenèse, à l'âge de 1 mois (à 22 mm en longueur standard, stade 39, Ballantyne, 1930; longueur qui correspond aussi à un âge de 1 mois d'après Machado-Allison, 1986). Chez un autre Callichthyidae, *Corydoras arcuatus*, il a été récemment montré (Sire et Arnulf, 1990; Sire, 1993) que les scutes se forment environ 30 jours après l'éclosion (11,5 à 15 mm en longueur standard). S'il en est de même chez les individus des deux lots, la région d'os à fibres enchevêtrées s'est déposée en un temps limité, inférieur à 15 jours et la vitesse d'ostéogenèse moyenne a été de 18 µm/j.

Le fait que les scutes des individus du lot 1 présentent une croissance relative plus élevée que celles du lot 2 est dû, tout au moins en partie, à la différence d'âge entre les animaux des deux lots. En effet, les atipas du lot 2 ont été injectés pour la première fois à l'âge de 87 jours soit 6 semaines plus tard que ceux du lot 1. Une deuxième raison est la date tardive de la ponte, donc de l'éclosion, pour ce lot, qui a entrainé un début de développement en grande saison sèche et probablement une ostéogenèse relativement plus lente. Comme l'expérience montre que, chez les individus du lot 1, la croissance est très importante dans les premières semaines, un décalage s'est produit dans les vitesses d'ostéogenèse. Si l'on admet que la croissance des scutes est semblable pour les individus des deux lots pendant les 6 premières semaines, les courbes d'accroissement osseux des deux lots sont alors assez proches; par exemple, le dépôt osseux correspondant à l'intervalle F1O1 du second lot est plus proche de celui de l'intervalle O1T1 du premier lot que de l'intervalle F1O1 de ce même lot, etc.

Le ralentissement de croissance observé chez les individus du lot 1 pendant la période T1F2 est sans aucun doute la conséquence de la grande saison sèche comme cela a aussi été remarqué dans les épines des mêmes individus (Boujard et Meunier, 1991).

Nos résultats confirment ceux qui avaient été obtenus pour les épines des mêmes individus (Boujard et Meunier, 1991). Pour ces dernières la vitesse d'ostéogenèse maximale a été de 19 µm/j pour une moyenne de 13, 3 µm/j pour les mâles et de 15 µm/j en moyenne pour les femelles durant la première période d'injection. Chez les mâles du lot 2 la valeur maximale enregistrée est de 23 µm/j dans la région d'épaississement spécifique à la période de maturation génitale. Ces valeurs sont voisines de celles qui ont été calculées dans les régions antérieure et postérieure des scutes (max. 29,5 µm/j et moyenne de 20,2 µm/j pour la région postérieure et 10,5 µm/j pour la région antérieure). Les valeurs les

plus élevées de l'ostéogenèse dans les épines correspondent à un dépôt d'os très vascularisé de type réticulaire (Francillon-Vieillot *et al.*, 1990) alors que les vitesses d'apposition dans les scutes ont été mesurées dans de l'os à fibres parallèles.

Des données de la littérature concernant les vitesses d'apposition osseuse chez les Vertébrés ont été récemment comparées dans le cadre d'une analyse comparative de la typologie osseuse (Ricqlès *et al.*, 1991). Seul l'os de jeunes Mammifères peut présenter des vitesses d'ostéogenèse comparables à celles que l'on vient de citer: chez des visons (*Mustela vison*) âgés de 2 à 3 mois, l'os trabéculaire de la mandibule se dépose à des vitesses pouvant atteindre 46 µm/j (Buffrénil et Pascal, 1984); chez de jeunes boeufs (*Bos taurus*), l'os se dépose à la vitesse de 4,4 µm/j dans la diaphyse fémorale (Ricqlès *et al.*, 1991); chez le jeune rat (*Rattus* sp.), l'ostéogenèse est de 3 à 10 µm/j (Hammond et Storey, 1974). Lorsque les vitesses du dépôt osseux sont calculées dans de l'os à fibres parallèles et chez l'adulte, les valeurs obtenues sont inférieures à 1 µm/j, aussi bien chez les Mammifères (cf Ricqlès *et al.*, 1991) que chez les Amphibiens (e.g., 0,25 µm chez *Triturus cristatus*, Francillon, 1979), les Reptiles (e.g., 0,26 µm/j chez *Vipera aspis*, Castanet et Naulleau, 1985; 0,3 à 0,5 µm/j chez *Anguis fragilis*, Zylberberg et Castanet, 1985) et les Poissons.(e.g., 0,4 µm/j chez *Salmo gairdneri*, Meunier, 1972). La vitesse d'ostéogenèse dans les écailles élasmoïdes du cichlidé *Hemichromis bimaculatus* ne dépasse pas 3 µm/j en surface et 0,33 µm/j dans l'épaisseur pour des individus âgés d'un an (Sire et Meunier, 1981). Les vitesses d'apposition osseuse relevées dans les scutes d'*Hoplosternum littorale* représentent les valeurs les plus fortes que l'on connaisse pour le dépôt d'os à fibres parallèles. Or il est actuellement admis qu'il existe une relation étroite entre la typologie osseuse et la vitesse de dépôt de l'os (Ricqlès, 1975, 1976, 1977): vitesse rapide = os fibreux éventuellement très vascularisé; vitesse plus lente = os à fibres parallèles. L'apparente contradiction amenée par l'association d'une ostéogenèse rapide avec un dépôt d'os à fibres parallèles dans les scutes d'*H. littorale* provient peut-être de la nature de l'élément squelettique en question. Les scutes croissent essentiellement en surface et leur épaississement est faible avec le dépôt d'un os peu ou pas vascularisé. En revanche, chez les mâles en maturation les épines s'accroissent dans un espace tridimensionnel et l'ostéogenèse rapide se caractérise par un os hypervascularisé à fibres enchevêtrées. Ainsi, dans l'interprétation dynamique (vitesse d'ostéogenèse) d'un type osseux il faut prendre en compte également ses caractéristiques morphologiques et fonctionnelles. Il faut aussi souligner que ces résultats ont été obtenus chez des individus très jeunes et que des comparaisons manquent dans la littérature pour les vitesses d'ostéogenèse dans d'autres os de jeunes Poissons, Reptiles ou Amphibiens.

Remerciements. - Nous tenons à remercier nos collègues Jacques Castanet (Laboratoire d'Anatomie comparée, Université Paris 7) et Michel Pascal (Département d'Hydrobiologie et Faune sauvage, INRA, Rennes) pour leurs remarques constructives. Toute la partie expérimentale de ce travail (élevage des poissons et injection des marqueurs fluorescents) a été effectuée dans les bassins d'élevage du Laboratoire d'Hydrobiologie de l'INRA à Kourou (Guyane française).

RÉFÉRENCES

BALLANTYNE F.M., 1930. - Notes on the development of *Callichthys littoralis*. *Trans. Roy. Soc. Edinb.*, 61(II, 18): 437-466.

BHATTI H.K., 1938. - The integument and dermal skeleton of Siluroidea. *Trans. zool. Soc. Lond.*, 24: 1-102.

BOUJARD T., LE BAIL P.-Y. & P. PLANQUETTE, 1988. - Données biologiques sur quelques espèces continentales de Guyane Française d'intérêt piscicole. *Aquat. living Resour.*, 1: 107-114.

BOUJARD T. & F.J. MEUNIER, 1991.- Croissance de l'épine pectorale, histologie osseuse et dimorphisme sexuel chez l'atipa, *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828 (Callichthyidae, Siluriforme). *Cybium*, 15: 55-68.

BOUJARD T., MOREAU Y. & P. LUQUET, 1992. - Diel cycles in *Hoplosternum littorale* (Teleostei): entrainment of feeding activity by low intensity colored light. *Env. Biol. Fish.*, 35(3): 301-309.

BUFFRÉNIL V. de & M. PASCAL, 1984. - Croissance et morphogenèse postnatales de la mandibule du vison (*Mustela vison* Schreiber): données sur la dynamique et l'interprétation fonctionnelle des dépôts osseux mandibulaires. *Can. J. Zool.*, 62: 2026-2037.

CASTANET J. & J. NAULLEAU, 1985. - La squelettochronologie chez les Reptiles. II. Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques chez les serpents. Remarques sur la croissance et la longévité de la vipère aspic. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, 13ème sér., 7: 41-62.

FICHET E., PASCAL M. & P. DOUVILLE, 1986. - Mise au point d'une méthode de marquage collectif par l'emploi de fluoromarqueurs vitaux dans une perspective d'étude des phénomènes de déplacement chez les vertébrés supérieurs. Expériences préliminaires sur le Campagnol terrestre (*Arvicola terrestris sherman* (Shaw, 1801). *In*: Actes du Colloque Biologie des Populations (Lyon): 561-566.

FRANCILLON H., 1979. - Etude expérimentale des marques de croissance sur les humérus et les fémurs de Tritons crêtés (*Triturus cristatus cristatus* Laurenti) en relation avec la détermination de l'âge individuel. *Acta Zool. (Stockh.)*, 60: 223-232.

FRANCILLON-VIEILLOT H., BUFFRÉNIL V. de, CASTANET J., GÉRAUDIE J., MEUNIER F.J., SIRE J.Y., ZYLBERBERG L. & A. de RICQLÈS, 1990. - Microstructure and mineralization of Vertebrate skeletal tissues, Vol. 1: 471-530. *In*: Skeletal Biomineralization: Patterns, Processes and evolutionary Trends (Carter J.G., ed.). Van Nostrand Reinhold, New-York.

HAMMOND R.H. & E. STOREY, 1974. - Measurement of growth and resorption of bone in the seventh caudal vertebra of the rat. *Calcif. Tissue Res.*, 15: 11-20.

HOSTACHE G., PASCAL M., KERNEN M. & C. TESSIER, 1992. - Température et incubation chez l'Atipa, *Hoplosternum littorale* (Teleostei, Siluriforme). *Aquat. living Resour.*, 5: 1-9.

LUQUET P., BOUJARD T., PLANQUETTE P., MOREAU Y. & G. HOSTACHE, 1990. - The culture of *Hoplosternum littorale*: state of the art and perspectives. *In*: Advances in tropical Aquaculture: Worshop held in Tahiti, French Polynesia (Barret J., ed.) pp. 511-516. IFREMER, Plouzané, France.

MACHADO-ALLISON A., 1986. - Aspectos sobre la historia natural del "Curito" *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828) (Siluriformes-Callichthyidae) en el bajo llano de Venezuela: desarollo, alimentacion y distribucion espacial. *Acta cient. Venezol.*, 37: 72-78.

MEUNIER F., 1972. - Marquages simples et marquages multiples du tissu osseux de quelques Téléostéens par des substances fluorescentes. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 275: 1685-1688.

MEUNIER F., 1974. - La technique de marquage vital des tissus squelettiques des poissons. *Bull. fr. Pisc.*, 255: 51-57.

MEUNIER F. & G. BOIVIN, 1974. - Divers aspects de la fixation du chlorhydrate de tétracycline sur les tissus squelettiques de quelques Téléostéens. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 99: 495-504.

MEUNIER F.J. & G. BOIVIN, 1978. - Action de la fluorescéine, de l'alizarine, du bleu de calcéine et de diverses doses de tétracycline sur la croissance de la truite et de la carpe. *Ann. Biol. anim., Bioch. Biophys.*, 18: 1293-1308.

MEUNIER F. & M. PASCAL, 1981. - Etude expérimentale de la croissance cyclique des rayons de nageoire de la carpe (*Cyprinus carpio* L.). Résultats préliminaires. *Aquaculture*, 26: 23-40.

MOREAU Y., MEDALE F., BOUJARD T. & P. LUQUET, 1992. - Postprandial utilization of energy substrates by a tropical catfish, *Hoplosternum littorale*: indirect calorimetry analysis. *J. Aquacult. trop.*, 7(2): 249-256.

ØRVIG T., 1977. - A survey of odontodes ("dermal teeth") from developmental, structural, functional, and phyletic points of view pp. 52-75. *In*: Problems in Vertebrate Evolution, (Andrews S.M., Miles R.S. & A.D. Walker, eds), Linnean Soc., Symp. 4. London - New York: Academic Press.

RICQLÈS A. de, 1975. - Recherches paléohistologiques sur les os longs des Tétrapodes. VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des Tétrapodes (1ère partie). *Ann. Paléont. (Vertébrés)*, 61: 51-129.

RICQLÈS A. de, 1976. - Recherches paléohistologiques sur les os longs des Tétrapodes. VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des Tétrapodes (2ème partie). *Ann. Paléont. (Vertébrés)*, 62: 71-126.

RICQLÈS A. de, 1977. - Recherches paléohistologiques sur les os longs des Tétrapodes. VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des Tétrapodes (2ème partie, suite). *Ann. Paléont. (Vertébrés)*, 63: 33-56.

RICQLÈS A. de, MEUNIER F.J., CASTANET J. & H. FRANCILLON-VIEILLOT, 1991. - Comparative microstructure of bone. *In*: Bone, (Hall B.K., ed.), vol. 3: 1-78. CRC Press.

SIRE J.Y., 1993. - Development and fine structure of the bony scutes in *Corydoras arcuatus* (Siluriformes, Callichthyidae). *J. Morphol.*, 215: 225-244.

SIRE J.Y. & I. ARNULF, 1990. - The development of squamation in four teleostean fishes with a survey of the literature. *Jap. J. Ichtyol.*, 37: 133-143.

SIRE J.Y. & F.J. MEUNIER, 1981. - Structure et minéralisation de l'écaille de *Hemichromis bimaculatus* (Téléostéen, Perciforme, Cichlidé). *Arch. Zool. expér. gén.*, 122: 133-150.

SIRE J.Y. & F.J. MEUNIER, 1993. - Ornementation superficielle et structure des plaques osseuses dermiques de quelques Siluriformes cuirassés (Loricariidae, Callichthyidae, Doradidae). *Ann. Sci. nat., Zool.*, 14: 101-123.

TRÉBAOL L., FRANCILLON-VIEILLOT H. & F.J. MEUNIER, 1991. - Etude de la croissance des mâchoires pharyngiennes chez *Trachinotus teraia* (Carangidae, Perciformes) à l'aide de la technique du marquage vital. *Cybium*, 15: 263-270.

WINEMILLER K.O., 1987. - Feeding and reproductive biology of the currito, *Hoplosternum littorale*, in the Venezuelan llanos with comments on the possible function of the enlarged male pectoral spines. *Env. Biol. Fish.*, 20: 219-227.

ZYLBERBERG L. & J. CASTANET, 1985. - New data on the structure and the growth of the osteoderms in the reptile *Anguis fragilis* L. (Anguidae: Squamata). *J. Morphol.*, 186: 327-342.

Reçu le 13.01.1993.
Accepté pour publication le 17.02.1993.